7 195

Estratto dal Bollettino delle scienze naturali N. 2, Annata III.

Trasformazione della vescica germinativa e sua importanza nella segmentazione del tuorlo.

(Con 2 tav. litografiche).

Memoria di Michele Stossich.

L'anno scorso pubblicai nel bollettino di questa Società [1]) un lavoro embriologico, avente per iscopo principale la descrizione dei processi che si consumano nelle uova di serpule avvenuta che sia la fecondazione.

In quella comunicazione feci in primo luogo osservare, come l'uovo non lo si può riguardare come una cellula primitiva, ma bensì come una cellula composta, il di cui nucleo sarebbe la macchia germinativa e non la vescica germinativa.

Continuando quest' anno le summenzionate osservazioni ed anzi estendendole alla classe degli echinodermi, potei convincermi della verità della mia ipotesi.

L'uovo delle serpule di forma rotonda, rare volte ovale, è circondato da due membrane; l'una esterna, omogenea, trasparente, molto consistente, chiamata il *corio* e l'altra interna, sottilissima, chiamata la *membrana vitellina*, la quale riveste il tuorlo e prende parte alla segmentazione del medesimo. Questa membrana venne sino ad ora negletta dalla maggior parte degli embriologi, i quali riguardarono il corio come la vera membrana vitellina; però basta trattare l'uovo con una debole soluzione d'acido acetico ed osservarlo sotto forte ingrandimento, per scorgere sulla superficie del tuorlo una quantità di pieghe, provenienti appunto da un raggrinzamento della membrana vitellina.

Il contenuto plasmatico dell'uovo è differenziato in due strati, cioè nell'esterno molto granuloso ed il più delle volte colorato,

---

[1]) Vol. II, pag. 276.

chiamato *tuorlo*, e nell' interno, trasparente, chiamato *vescica germinativa*, la quale racchiude la *macchia germinativa* col suo nucleolo (Fig. 1).

Bischoff, parlando dell'uovo dei vertebrati, dimostrò pure che l'uovo non lo si può riguardare come una cellula primaria, per la ragione che sotto cellula noi intendiamo un corpo composto da una semplice membrana, di un contenuto più o meno granuloso, e di un nucleo. Ora l'uovo, è principalmente quello dei vertebrati, ha una composizione molto più complicata, dappoichè noi osserviamo in esso oltre una membrana, la quale rare volte è omogenea, un contenuto che in molti casi è diviso in diverse parti (tuorlo nutritivo e tuorlo d' evoluzione), le quali parti hanno funzioni fisiologiche del tutto differenti ed infine un nucleo, il quale non ha la composizione d' un nucleo di cellula primaria, ma contiene il suo nucleolo, il suo nucleolino e così via.

Perciò *Bischoff* riguarda la vescica germinativa come la vera cellula primaria dell' uovo ed il tuorlo con le sue membrane, semplici forme involucrali di questa cellula.

Io non posso che appoggiare questa ipotesi, sviluppata da uno dei primari embriologi tedeschi, inquantochè essa conferma pienamente le mie idee sopra questo tema.

È però vero che i processi embrionali dei vertebrati e degli invertebrati sono molto differenti tra loro, però non mai da impedirne un parallelo nel loro primissimo sviluppo; se l'uovo degli uni non corrisponde morfologicamente, perfettamente all' uovo degli altri, in base a questa nuova ipotesi si vedrà benissimo, che fisiologicamente sono del tutto eguali. L'uovo delle serpule (e di tutti gl' invertebrati) nel suo primissimo stadio si compone di un protoplasma trasparente poco granuloso (vescica germinativa) e di un nucleo, il tutto circondato da una finissima membrana; il protoplasma trasuda poi uno strato plasmatico esterno, il quale forma il tuorlo.

Nei vertebrati abbiamo precisamente la medesima cosa, soltanto colla differenza, che il protoplasma invece di trasudare una materia semplice come negl' invertebrati, ne trasuda una di composizione più complicata, ed il tutto poi si riveste di membrane e strati albuminosi, i quali hanno un valore del tutto secondario, non essendo che semplici mezzi di difesa pel tuorlo.

D' Udekem studiando lo sviluppo dei lombrici, vermi molto affini ai Cephalobranchiata, fece quasi le medesime osservazioni. Egli dice: ciò che riguarda lo sviluppo dell' uovo nel corpo del-

l'animale, questo si effettua probabilmente presso tutti gli annelidi nel medesimo modo, cioè si forma prima le vescica germinativa, attorno alla quale poi si sviluppano il tuorlo e la membrana.

Ora da queste osservazioni di d'Udekem si comprende facilmente che anch'egli riguarda la vescica germinativa come la vera cellula primaria, dalla quale poi si sviluppano le altre forme involucrali, quali sarebbero il tuorlo, strati albuminosi, membrane e così via.

Ratzel però non combina perfettamente con queste osservazioni, perchè egli dice, che il tuorlo e la membrana non si sviluppano attorno alla cellula primaria per deposizione, ma bensì dagli elementi di essa cellula e riguarda il nucleo di questa cellula come la macchia germinativa, il suo protoplasma come la vescica germinativa ed il tuorlo, e la sua membrana come la membrana vitellina o il corio.

Queste osservazioni di Ratzel non fanno che affermare la mia ipotesi sopra la natura e formazione dell'uovo, cioè primo, che la vera cellula primaria è la vescica germinativa e secondo, che l'uovo maturo atto ad essere fecondato si compone d'un contenuto differenziato di due strati, cioè di uno strato esterno detto volgarmente tuorlo e di uno strato interno denominato vescica germinativa.

Secondo questa ipotesi è facile anche di spiegare il perchè la vescica germinativa sia priva di una membrana; nel primissimo stadio. come lo abbiamo diggià detto, l'uovo si compone soltanto di un nucleo, d'un contenuto protoplasmatico e di una membrana; ora col progredire dello sviluppo tra la membrana della cellula ed il suo contenuto si va formando da quest'ultimo, per deposito o trasudamento, un altro strato protoplasmatico (tuorlo), il quale sempre più ingrandisce, e la membrana, dalla quale era prima rivestita la cellula, è obbligata ad allargarsi e formare così la membrana vitellina, lasciandone priva la vescica germinativa.

L'atto della fecondazione, come lo dimostrai nel mio primo lavoro, *sopra lo sviluppo delle serpule*, è esterno, vale a dire, lo spermatozoo non entra nell'uovo, ma resta attaccato sulla sua superficie colla testa e non colla coda. In conseguenza di ciò non posso accettare le osservazioni del *Dr. Weil* e del *Pr. Hensen*, i quali affermano di avere visto gli spermatozoi tanto nello strato albuminoso, che contorna l'uovo dei vertebrati, quanto nel tuorlo medesimo ed il primo perfino nel protoplasma delle sfere di segmentazione. Ora farò osservare, che è molto facile prendere abbaglio,

specialmente quando il tuorlo possiede un certo grado di trasparenza. L'uovo viene fecondato non da un solo spermatozoo, ma da moltissimi, così che quasi tutta la sua superficie ne è ricoperta; ora osservando un simile uovo sotto il microscopio, sarà naturale, che attaccati non sembreranno che quegli spermatozoi, i quali si trovano sul contorno dell'uovo, che invece quegli che si trovano attaccati di sopra o di sotto, compariranno come fossero nel tuorlo medesimo, però basterà girare l'uovo con precauzione per accertarsi del contrario.

Per ciò che riguarda la fecondazione, non posso che affermare ed accettare le idee di *Bischoff* da esso sviluppate or sono 30 anni. Egli dice, che lo sperma non agisce per forza chimica, ma per forza catalitica, cioè lo sperma costituisce una materia, la quale si trova in una certa forma di trasformazione e por conseguenza in uno stato di movimento interno; e questo movimento è quello che viene comunicato alla materia dell'uovo, la quale non può opporre che una piccolissima resistenza, trovandosi in stato di grandissima tensione e della più grande inclinazione verso un movimento, se non eguale almeno consimile.

Lo sperma non agisce, che come regolatore e rinforzatore, dei movimenti interni dell'uovo; si osservarono anche uova non fecondate segmentarsi nel medesimo modo come uova fecondate, però dopo alcun tempo il processo diveniva irregolare, si rallentava e l'uovo moriva. Dunque da ciò si vede, che nell'uovo abbiamo di già un movimento propenso alla formazione dell'embrione, ma a questo movimento manca la forza di progredire e la forza regolatrice e queste due forze vengono appunto comunicate all'uovo dallo sperma, in causa del contatto, ed in causa della forza di riflessione.

Sviluppate con ciò in succinto e confermate le ipotesi di *Bischoff*, passerò ai fenomeni che si osservano nel tuorlo avvenuta la fecondazione.

Prima ancora delle osservazioni di *Dumas* e *Prevost* cioè prima del 1824, gli scienziati cominciarono ad occuparsi dei fenomeni interessanti, che si producono avvenuta la fecondazione, però le loro osservazioni avevano sempre il medesimo risultato e concludevano, che in causa della fruttificazione la vescica germinativa

sparisce, ipotesi, la quale, ancora al giorno d'oggi trovò e trova dei potenti difensori.

Nel 1852 Müller studiando lo sviluppo di *Entoconcha mirabilis*, fece l'importante scoperta, che la vescica germinativa non sparisce, ma si divide formando i due nuclei per le due prime sfere di segmentazione. Questa scoperta venne rinforzata dalle osservazioni di *Van Beneden*, il quale dimostrò che la vescica germinativa è la madre di tutti i nuclei delle sfere di segmentazione, nel medesimo modo, che dal tuorlo provengono tutte le sfere embrionali e faceva infine osservare che la vescica germinativa veniva resa invisibile dalla maggior densità del tuorlo.

Le osservazioni e le pubblicazioni si seguirono in numero stragrande, però la maggior parte di esse venivano alla conclusione, che la vescica germinativa sparisce senza lasciar traccia alcuna.

Nel 1872 il *Dr. Oellacher*, professore d'embriologia all'Università d'Innsbruck, fece delle interessantissime osservazioni e venne alla conclusione, che la vescica germinativa nelle uova delle trote non sparisce, non viene sciolta, ma bensì respinta dal germe prima della fruttificazione ed infine, che essa non si trova in verun rapporto genetico coi nuclei delle prime sfere embrionali.

Del tutto opposte furono le osservazioni del *Dr. Brandt*. Egli ammette, che la vescica germinativa è un corpo, possedente forti movimenti ameboidali e che in causa di questi movimenti essa si disperde nel tuorlo e venga perciò resa invisibile ed infine che i nuclei delle sfere di segmentazione non sono altro che discendenti della vescica germinativa.

Degli altri lavori, che trattarono questo tema più o meno diffusamente, non ne farò pel momento menzione, dovendo di già nel corso del mio lavoro richiamarne l'attenzione e perciò passo subito alle mie proprie osservazioni.

La vescica germinativa dell'uovo maturo, dell'uovo pronto ad essere fecondato, ha una forma perfettamente sferica e, come prima dimostrato, si trova priva d'una membrana; il suo protoplasma è chiaro, trasparente, omogeneo e poco granuloso. *Hertwig* osservò nella massa di questa, dei fili sottilissimi, che si diramano in tutte le direzioni, formando una specie di rete nella massa della vescica germinativa; questa osservazione non venne, a mio credere, confermata da nessun fisiologo, inquantochè se la vescica germinativa avesse una struttura così complicata, l'uovo non lo si

potrebbe più riguardare come una cellula, ma come un organismo diggià molto differenziato.

La macchia germinativa è posta sempre eccentricamente, è rotonda e contiene un nucleolino molto bene pronunziato. Ebbi l' occasione di vedere diverse volte due macchie germinative in un sol uovo, le quali erano però sempre unite; in questo caso mancavano sempre i nucleolini. *Ratzel* fece pure la medesima osservazione in uova di Tubifex, ammettendo una divisione spontanea della macchia germinativa.

Dopo la fecondazione il nucleolino non è più visibile, i contorni della macchia germinativa divengono sempre più indecisi, sino che sparisce del tutto, senza lasciare traccia alcuna.

Intanto anche i contorni della vescica germinativa cominciano a divenire sempre più incerti, e di rotondi che erano prima della fecondazione, hanno invece adesso una forma irregolare dentata. Questo cambiamento di forme non è altro che l' effetto del movimento che si sviluppa nell' uovo, *in causa del contatto collo sperma.* Non è il solo *Bischoff*, che riguarda la fecondazione come un effetto di contatto, ma bensì anche il prof. *Miescher* di Basilea, il quale dice chiaramente che l' unica spiegazione per la fruttificazione, la quale non verrebbe contraddetta dai fatti, sarebbe quella d' un processo motore fisico. Così anche il prof. *His* ripete la medesima cosa in altri termini, dicendo che l' unica teoria valevole per la procreazione, sarebbe quella d' un movimento trasmesso. Ora la materia dello spermatozoo maturo va soggetta ad un processo di trasformazione, per cui le sue molecole si trovano in un movimento, il quale viene partecipato alla materia dell' uovo. Il movimento si sviluppa da prima nello strato esterno dell' uovo, in forma di un movimento rotatorio delle granulazioni del tuorlo, accompagnato in pari tempo da una trasformazione chimica della materia fondamentale, per la quale vengono depositate nuove granulazioni e resa questa più opaca; in causa di queste trasformazioni poi vengono secernati dei liquidi o gas, i quali si radunano tra il corio e la membrana vitellina. Il movimento dello strato esterno va sempre più internandosi, sino a che arriva al secondo strato, cioè alla vescica germinativa; siccome poi questi due strati sono, tanto morfologicamente, che fisiologicamente diversi tra loro, così anche i loro movimenti devono essere differenti, ed infatti i movimenti della vescica germinativa non sono più rotatori ma bensì *ameboidali.* Questa è la ragione per cui la vescica germinativa dopo av-

venuta la fecondazione acquista i contorni irregolari, dentati. Io ammetto bensì un movimento ameboidale nella massa della vescica germinativa, però non tanto forte, quanto lo descrive il *Brandt* per le uova di Limnaeus ed Ascaris. Secondo il *Brandt* i movimenti sarebbero tanto forti da dividere perfino la vescica germinativa in diverse parti, processo che non venne da me mai osservato; in altri casi poi la vescica germinativa si diffonderebbe nella massa del tuorlo, formando nel medesimo una specie di rete protoplasmatica o d'annubiamento, fenomeno che non si produce mai nelle uova di serpule. In queste ultime, come lo dimostrai nel mio ultimo lavoro, la vescica germinativa ascende piano a piano verso la superficie del tuorlo, non essendovi altro cambiamento di forma, che quella dei suoi contorni, che divengono più irregolari. Anzi feci osservare, che causa principale di questa emigrazione, si è la maggior densità dello strato esterno, per cui l'interno essendo più leggero si trova obbligato ad ascendere verso la superficie. Secondo le mie ultime osservazioni invece, devo correggere questa ipotesi, inquantochè non è la maggior densità del tuorlo causa unica dell'ascensione della vescica germinativa, ma in aiuto di questa vengono anche i movimenti ameboidali della vescica germinativa.

Arrivata la vescica germinativa alla superficie del tuorlo viene compressa sempre di più verso la membrana vitellina ed acquista così una forma appianata, lenticulare. Poco a poco la membrana viene riassorbita e per l'apertura formatasi sorte il contenuto della vescica in forma di 2 o 3 globuli, conosciuti sotto il nome di *vescichette direttrici*. Non mi fu possibile di determinare se sorte tutto o una parte soltanto del contenuto, però sarei d'opinione, che tutta la massa della vescica sorte, inquantochè lo spazio del tuorlo, dal quale devono sortire le vescichette e che in causa della presenza della vescica germinativa è più chiaro, va gradatamente inscurendosi ed all'espulsione dell'ultima vescichetta, tutto il tuorlo presenta un aspetto omogeneo eguale.

Queste mie osservazioni non combinano perfettamente con quelle di *Brandt*; egli ammette bensì, che la vescica germinativa salga verso la superficie del tuorlo e sorta dal medesimo formandone le vescichette direttrici, però in queste ultime egli vide dei nuclei ed in questo riguardo emette l'ipotesi, che vi deve essere una macchia germinativa (curiosa cosa, che non ne vidi mai nessuna), la quale si adatti alla forma ameboidale della vescica ger-

minativa, perciò ogni pezzetto di vescica germinativa dovrebbe contenere un pezzetto di macchia germinativa, ed essendo le vescichette direttrici tanti pezzetti di vescica germinativa, così i loro nuclei non sarebbero altro, che dei pezzetti di macchia germinativa. Questa sarebbe per sè un' ipotesi molto bella e nel pari tempo facile a comprendersi ed a spiegarsi, però si trova in perfetto disaccordo coi fatti.

Come già dimostrai, la macchia germinativa non va soggetta a cambiamenti ameboidali, ma i suoi contorni restano sempre rotondi, regolari, divenendo dopo la fecondazione sempre più indecisi, fino a tanto che sparisce e poi sappiamo benissimo da innumerevoli osservazioni, che le veschichette direttrici non posseggono mai un nucleo, ma soltanto alcuni granellini, sparsi nel loro contenuto.

Anzi *Bütschli* nel 1875 fece delle osservazioni abbastanza curiose, cioè, egli vide le due vescichette direttrici unite fra loro per mezzo di un peduncolo, ed in ognuna una fila di granelli scuri, lucenti, dai quali partivano dei filamenti sottilissimi, che oltrepassando il peduncolo, andavano ad unirsi coi granelli corrispondenti dell' altra vescichetta. Dunque le vescichette direttrici secondo *Bütschli* hanno un struttura eguale a quella del „corpo aghiforme“ delle uova di Cucullanus, che comparisce dopo la sparizione della vescica germinativa, così le vescichette direttrici non sarebbero altro che la macchia germinativa.

Più interessanti sono le osservazioni di *Oellacher*, essendo stato egli il primo, che dimostrò assurda l' idea d' una sparizione della vescica germinativa nelle uova di pesci. Egli ci fece chiaramente vedere come la vescica germinativa venga spinta alla superficie del germe e come il suo contenuto venga respinto tra il germe e la membrana in forma di due corpuscoli. Da ciò si scorge che i risultati di *Oellacher* combinano perfettamente coi miei, colla differenza, che egli ammette tutto questo processo prima della fecondazione. Domandiamo ora, a che servirebbe la fecondazione, se i primi processi dello sviluppo embrionale, i processi che regolano la segmentazione del tuorlo e quindi la forma e posizione dell' embrione, potrebbero svilupparsi senza di questa? Non feci diggià rimarcare, che l' unico scopo della fecondazione si è di regolare e di agevolare questi primi processi onde averne uno sviluppo regolare e non ho fatto osservare che se la fecondazione non ha luogo, questi processi non soltanto vanno rallentando, dando sviluppo ad ogni genere

d' anomalie, ma bensì dopo alcun tempo ne avviene la morte dell' uovo?

Il più incredibile si è come *Oellacher* da queste sue osservazioni fatte sopra uova di trote, poteva dedurre una legge generale per tutto il regno animale, sapendo che i più antichi embriologi ammettevano la sparizione della vescica germinativa, come il primo fenomeno della fruttificazione; ad esempio accennerò le osservazioni di *Lowen* del 1848, e di *Kölliker* del 1843. *Van Beneden* fece successivamente delle osservazioni sopra la vescica germinativa, le quali difieriscono interamente dalle osservazioni fatte da altri fisiologi, però sembrano abbastanza interessanti, da venir prese in considerazione. Egli osservò, che la vescica germinativa emigra verso la superficie del tuorlo, che si appiana e che attorno di essa si raduna una massa protoplasmatica, omogenea, formando il tutto una lente biconvessa (la lentille circatriculaire). La macchia germinativa invece si fonde colla membrana della vescica germinativa, formando una lamina (la plaque nucleolaire), e nel medesimo tempo il resto della membrana della vescica germinativa, che non prese parte alla fusione si scioglie. Dal „nucleoplasma" (il contenuto della vescica germinativa) e dai „corpuscoli secondari", che si trovano nella vescica germinativa, si sviluppa un corpo più o meno distinto, il „corpo nucleoplasmico" e dalla lamina nucleolare invece si forma un altro corpo, il „corpo nucleare". Questi due corpi non sono altro, che le due veschichette direttrici, le quali avendo un' origine differente, devono avere una composizione ed uno scopo pure differenti. Intanto il tuorlo si divide in uno „strato corticale" ed in una „massa medullare"; più tardi però si contrae, trasuda un liquido (liquido perivitellino) ed acquista un aspetto omogeneo.

Queste osservazioni di *Van Beneden*, a me note soltanto da una succinta relazione di *Bischoff*, si dimostrano, a mio credere, troppo complicate, e si basano tutte sopra preparati ed ognuno sa quanto fallace sia il voler dedurre un risultato da preparati, che furono assoggettati a tutte le specie di reagenti, sottoposti a pressioni e così via. Io sono del medesimo parere di *Bischoff*, cioè di studiare e fare le proprie osservazioni, per quanto sia possibile, sopra oggetti freschi, per evitare l' azione dei reagenti, giacchè si conosce che tutti i reagenti, per quanto presto operino, producono sempre un raggrinzamento dell' oggetto, dando così sviluppo ad ogni specie di pieghe, solchi, linee, ecc. ec.

Tutte queste osservazioni fatte dal *Van Beneden*, tanto sopra uova di conigli, quanto sopra uova di echinodermi, credo non sieno altro che fenomeni di coagulazione. Io ebbi campo di esaminare uova di *Echinus saxatilis*, di *Serpula glomerata* ed *Ascidia intestinalis*, seguitai accuratamente tutto il processo, ma non mi fu mai possibile di osservare fenomeni così complicati come quelli osservati da *Van Beneden*; il processo intero, come già lo descrissi, è molto semplice e consiste nelle seguenti fasi:

1) fecondazione;
2) scioglimento della macchia germinativa e principio dei movimenti ameboidali della vescica germinativa;
3) emigrazione di questa verso la superficie del tuorlo;
4) sortita di essa in forma di 2 o 3 vescichette direttrici.

Sortita l' ultima vescichetta direttrice, il tuorlo acquista un aspetto omogeneo, eguale. Però dopo alcun tempo, si osserva nel centro un corpo rotondo, il quale diviene sempre più visibile ed acquista contorni più precisi; questo corpo è il nucleo della prima „sfera embrionale“, esso è analogo alla macchia germinativa, essendo anche questa un nucleo e precisamente quello della cellula primitiva dell' uovo; perciò anch' egli, come la macchia germinativa, deve subire un processo di scioglimento.

Infatti alcun tempo dopo i suoi contorni divengono sempre più indecisi, fino a tanto che sparisce senza lasciar traccia. Con lo scioglimento del nucleo ha fine l' esistenza della prima sfera embrionale, inquantochè alcuni momenti dopo cominciano a svilupparsi nel tuorlo certi fenomeni, i quali propendono alla formazione di due nuovi nuclei ed alla divisione del tuorlo in due sfere embrionali.

Come dopo lo scioglimento della macchia germinativa e l' espulsione della vescica germinativa in forma di due o tre vescichette direttrici, il tuorlo acquista un aspetto omogeneo, così anche dopo lo scioglimento del primo nucleo embrionale non troviamo nel tuorlo alcun segno differenziale.

Questo stato di quiete apparente, perdura un tempo maggiore di quello adoperato alla formazione della prima cellula embrionale, inquantochè i processi sono molto più complicati ed abbisognano perciò di una nuova riordinazione nelle molecole del tuorlo.

Noi vediamo radunarsi poco a poco, nel centro una massa protoplasmatica, la quale s' ingradisce sino ad un certo punto, divenendo in pari tempo sempre più visibile, con contorni però

sfumatissimi; le gramulazioni del tuorlo perdono il loro movimento rotatorio e si dispongono in tanti raggi, che dipartono dalla massa centrale. Questo corpo, che possiede ora una forma rotonda, si allunga in un piano perpendicolare al piano, nel quale sortirono le vescichette direttrici, e dopo alcun tempo nel centro, avremmo un corpo non più rotondo, ma ovale. I movimenti di questo corpo non sono ameboidali, ma eguali ai soliti movimenti, che accompagnano una semplice divisione, cioè un allungamento del corpo con un' insolcatura nel mezzo. Così anche nel „corpo nucleare" dopo l'allungamento si osserva nel suo mezzo e precisamente nel punto di contatto dei due piani, formarsi un solco tanto dall' una, che dall'altra parte, e per l' unione di questi due solchi, il corpo si divide in due parti, cioè nei due nuclei per le sfere embrionali. Tutto questo processo viene accompagnato dalle figure cariolitiche di Auerbach, le quali alla fine della divisione nucleare, non dipartono più da un centro, ma bensì da due.

Avvenuta la divisione del nucleo, comincia quello del tuorlo, cioè nel punto ove sortirono le vesciche direttrici si forma il primo solco divisore, il quale viene poi subito seguito da un altro solco, che si sviluppa alla parte opposta.

Questi due solchi si avanzano sempre di più, distruggono a poco a poco le figure cariolitiche ed al momento dell' unione perfetta, tra i due nuclei, il tuorlo acquista il suo solito aspetto omogeneo, con un nucleo nel mezzo di ogni sfera e le granulazioni ricominciano il loro movimento rotatorio, abbandonato per poco tempo in causa della divisione del tuorlo.

Descritti con ciò i processi che accompagnano la divisione del tuorlo, passerò alla critica di tutti quei lavori di mia conoscenza che trattarono questo tema più o meno diffusamente.

Fra tutte le osservazioni, che meritano maggior attenzione, tanto per la complicazione dei fenomeni narrativi, quanto per le erronee conclusioni, da questi ricavate, sono quelle di *Hertwig* del 1875. Sarà bene di riferire tutto il processo, come lo osservò *Hertwig*, inquanto che esso non presenta alcuna analogia col processo da me e da molti altri osservato. Egli ammette in primo luogo, che la vescica germinativa sparisca senza lasciarne traccia e che la macchia germinativa resti intatta nel tuorlo formando così il nucleo per la prima cellula embrionale. Subito dopo la fruttificazione si osserva alla superficie del tuorlo una macchia rotonda, trasparente, attorno la quale le granulazioni si dispongono molto

regolarmente. In questa macchia, egli vide un corpicciuolo omogeneo, il quale (secondo *Hertwig*) non è altro che la testa di un spermatozoo, avendo egli poi osservato che da questo corpicciolo partiva verso la superficie dell' uovo una finissima linea, che si prolungava esternamente in un finissimo filamento; da queste osservazioni, *Hertwig* conclude, che la fecondazione deve essere interna e che perciò è necessaria l'entrata di un spermatozoo nell'uovo. La macchia periferica da lui chiamata „nucleo spermatico“ in controposto del „nucleo embrionale“ emigra verso il centro dell'uovo e si pone a lato del nucleo embrionale; questi due nuclei si fondono insieme e formano così il „nucleo di segmentazione“. Poco tempo dopo ai poli di questo nucleo si raduna una massa omogenea, la quale sempre più aumenta fino a tanto che il nucleo è del tutto sparito. Nel seguente stadio si osservano nel centro due macchie rotonde, trasparenti, le quali sono unite tra loro da un ponte trasparente e la figura che ne risulta la chiama la „figura di Hantel“.

Analoghe furono le osservazioni di *Van Beneden*. Egli osservò dopo la scomparsa della vescica germinativa, formarsi nel tuorlo due cosiddetti „pronuclei“, i quali fondendosi insieme, formavano il primo nucleo embrionale; questo nucleo poi per divisione sviluppava i due nuclei di segmentazione. *Van Beneden* però non vide mai la divisione del nucleo embrionale e questi suoi risultati si basano sopra una semplice supposizione.

Da quanto risulta ora, tanto *Hertwig* che *Van Beneden* ammettono una fecondazione interna, vale a dire l' entrata dello spermatozoo nell' uovo, anzi *Van Beneden* va ancor più oltre colle sue supposizioni, inquantochè per esso l' atto dell' entrata dello spermatozoo non sarebbe la vera fruttificazione, ma un fenomeno anteriore a questa, e la vera fecondazione avrebbe luogo al momento dell' unione dei due „pronuclei“ riguardando egli un nucleo come la sede dell' elemento maschile e l' altro come la sede dell' elemento femminile. Ora, da quanto io prima dimostrai, queste ipotesi, che a mio vedere non sono altro che il frutto di una fantasia esaltata, non sono ammissibili (e ciò lo dimostrò pure il Dr. *Bischoff*), inquantochè tanto *Hertwig*, che *Van Beneden*, non videro mai una micropila, non osservarono mai l' entrata di uno spermatozoo nell' uovo e ciò che *Hertwig* prese per la coda di uno spermatozoo non sarà stato altro che un raggrinzamento della membrana vitellina, fenomeno che si produce molto spesso. E poi sappiamo che l' uovo non viene mai fecondato da un solo spermatozoo, ma

bensì da moltissimi e perciò sarebbe del tutto assurda l'idea di voler ammettere l'entrata nell'uovo di un solo spermatozoo.

In secondo luogo feci vedere chiaramente, che la macchia germinativa va soggetta ad uno sviluppo retrogrado, cioè ad uno scioglimento, e che alla sortita dell'ultima vescichetta direttrice, il tuorlo presenta un aspetto omogeneo; il primo nucleo embrionale, che secondo *Hertwig* non sarebbe che l'inalterata macchia germinativa, non è altro che una neoformazione: il nucleo poi non si divide direttamente per formarne i due nuclei di segmentazione, ma si scioglie completamente.

Interessanti sono le osservazioni di *Rabl* sopra l'importanza delle veschichette direttrici. Egli divide tutte le opinioni, che trattano questo tema in due gruppi. I parteggianti del primo gruppo, *Oellacher*, *Bütschli*, *Flemming* e *Brandt*, riguardano le vescichette direttrici come la vescica germinativa o almeno una parte della medesima; i parteggianti del secondo gruppo invece, *Semper* e *Selenka*, le riguardano come gli escrementi dell'uovo e l'atto della loro espulsione come una deliberazione del tuorlo da corpi inutili. Le opinioni di questo secondo gruppo, non possono nemmen venir prese in considerazione, inquantochè esse si trovano in perfetta opposizione ai fatti, avendo fatto rilevare abbastanza chiaramente, tanto con figure, quanto con parole, come la vescica germinativa si trasformi nelle vescichette direttrici, dimostrando dippoi l'importanza di queste nella segmentazione del tuorlo.

Rabl pure dice, che ammettendo questa seconda ipotesi, cioè quella di una purificazione del tuorlo, si dovrebbe avere una differenza tra lo sviluppo di uova che posseggono queste cellule e tra quelle che non le posseggono, per la ragione che nelle prime uova si dovrebbero sviluppare durante il primo sviluppo dei processi fisiologici del tutto differenti da quelli che si svilupperebbero in uova prive di cellule direttrici.

Ora farò osservare che una simile supposizione è del tutto infondata; in primo luogo noi sappiamo che tutte le uova vanno soggette ad un processo di segmentazione e per conseguenza avendo dimostrato, che le vescichette direttrici iniziano e regolano questo processo, così non vi può essere uovo, che di esse difettino; finalmente dimostrai pure come le vescichette vengano formate dalla vescica germinativa ed essendo ogni uovo provveduto di una vescica germinativa, deve, dopo la fecondazione, possedere le vescichette direttrici.

Erronea è pure l'idea di *Rabl* nel voler ammettere che le vescichette direttrici si sviluppano soltanto in uova che vanno soggette ad un processo di segmentazione irregolare, avendole io trovate in uova di serpule, ascidie ed altri animali soggetti a segmentazione regolare.

Per la medesima ragione diviene del tutto fallace l'ipotesi di *Rabl* nel riguardare le vescichette direttrici come mezzi di difesa, contro urti o compressioni; io farò osservare, che queste vescichette si trovano sempre, almeno nelle uova da me osservate, nella prima insolcatura, e mai ad un polo dell'uovo e che per conseguenza non possono mai fare il servizio di palle elastiche o di diminuitrici della pressione esercitata dal germe sopra la membrana.

Per ultimo avrei ancora da dire alcune parole sopra le figure cariolitiche; esse vengono sviluppate durante la formazione dei due primi nuclei di segmentazione e consistono in una disposizione regolare a tanti raggi, delle granulazioni del tuorlo. Sopra l'importanza di queste figure ed il loro modo di formazione non azzardo di dare alcun schiarimento, però posso affermare con certezza, che esse sono un fenomeno regolare e costante, in contraposto di *Kupffer* e *Brandt*, che le riguardano come un fenomeno del tutto secondario e non caratteristico per la segmentazione del tuorlo.

Conclusioni finali.

1. La vescica germinativa è la cellula primitiva dell'uovo, la quale poi per deposizione o trasudazione, sviluppa il tuorlo, le membrane e le altre forme involucrali.

2. Il tuorlo dell'uovo maturo è differenziato in due strati, l'uno esterno, formato dal vero tuorlo, l'altro interno, formato dalla vescica germinativa.

3. La fecondazione è esterna, vale a dire lo spermatozoo non entra mai nell'interno dell'uovo, ma resta attaccato alla sua superficie.

4. Scomparsa della macchia germinativa e principio dei movimenti ameboidali nella vescica germinativa.

5. Deposizione di nuove granulazioni nella massa del tuorlo; trasudazione di liquidi o gas, che si radunano tra il corio e la

membrana vitellina; ascensione della vescica germinativa verso la superficie del tuorlo.

6. Sortita della medesima in forma di due o tre vescichette direttrici; nel tuorlo primo stato di quiete apparente.

7. Formazione del nucleo embrionale; prima cellula embrionale, scomparsa del nucleo; nel tuorlo secondo stato di quiete apparente.

8. Formazione del nucleo di segmentazione; divisione di questo: figure cariolitiche.

9. *Divisione del tuorlo.*

TRIESTE, 9 luglio 1877.

Bibliografia.

Auerbach. Organologische Studien. Zur Charakteristik und Lebensgeschichte der Zellkerne. Breslau. 1874.

Baer. Die Metamorphose des Eies der Batrachier. Müller's Archiv. 1834.

Bergmann. Die Zerklüftung und Zellenbildung im Froschdotter. Müller's Archiv. 1841.

Bischoff. Theorie der Befruchtung. Müller's Archiv. 1847.

Bischoff. Historisch-kritische Bemerkungen zu den neuesten Mittheilungen über die erste Entwicklung der Säugethiereier. München. 1877.

Brandt. Ueber die Eifurchung von Ascaris nigrovenosa. Zeitschrift für wissensch. Zoologie. B. XXVIII. 1877.

Brandt. Bemerkungen über die Eifurchung, und Betheilungen des Keimbläschens an derselben. Zeitschrift f. wissenschaft. Zoologie. B. XXVIII. 1877.

Bütschli. Die ersten Entwicklungsvorgänge im befruchteten Ei von Nematoden und Schnecken. Zeitschrift für wissenschaft. Zoologie. B. XXV. 1875.

Bütschli. Mittheilungen über die Entwicklungsgeschichte der Paludina vivipara. Zeitschrift. f. wissensch. Zoologie. B. XXVII. 1876.

Carus. Auffindung des ersten Ei- oder Dotterbläschens in sehr frühen Lebensperioden des weiblichen Körpers. Müller's Archiv. 1837.

Dieck. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Nemertinen. Jenaische Zeitschrift. 1874.

Flemming. Ueber die ersten Entwicklungserscheinungen an Eiern der Teichmuschel. Archiv f. mikroskopische Anatomie. 1874.

Foll. Die erste Entwicklung des Geryonideneies. Jenaische Zeitschrift. B. VII.

Hertwig. Ueber die Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies. Gegenbaur's Jahrbuch 1876.

Kölliker. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte wirbelloser Thiere. Müller's Archiv. 1843.

Krause. Vermischte Beobachtungen. Ei der Säugethiere. Müller's Archiv. 1837.

Krohn. Ueber die Entwicklung der Ascidien. Müller's Archiv. 1852.

Kupffer. Zur Entwicklung der einfachen Ascidien. Archiv f. mikroskopische Anatomie. B. VIII.

Jhering. Ueber die Entwicklungsgeschichte von Helix. Jenaische Zeitschrift. 1875.

Lereboullet. Recherches d'embryogenie comp. sur le developp. de la Truite, du Lezard et du Limnèe. III. partie. Ann. d. sciences. natur. 4. ser. T. XVIII. 1862.

Lowen. Ueber die Entwicklung der kopflosen Mollusken. Müller's Archiv. 1848.

Ludwig. Ueber die Ordnung Gastrotricha Metschnikoff. Zeitschrift f. wissensch. Zoologie. B. XXVII. 1876.

Miescher. Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere. Verhandlung d. naturforsch. Gesellschaft in Basel. T. VI. 1874.

Müller. Zur Kenntniss des Furchungsprocesses im Schneckeneie. Archiv f. Naturgeschichte. 1848.

Oellacher. Beiträge zur Geschichte des Keimbläschens im Wirbelthiereie. Archiv f. mikroskopische Anatomie. B. VIII.

Prevost et Dumas. Deuxième mémoire sur la géneration. Annal. d. sciences natur. 1824.

Rabl. Die Ontogenie der Süsswasserpulmonaten. Jenaische Zeitschrift. 1875.

Rabl. Ueber die Entwicklungsgeschichte der Malermuschel. Jenaische Zeitschrift. 1876.

Rathke. Ueber den Furchungsprocess im Schneckeneie. Archiv für Naturgeschichte. 1848.

Ratzel. Beiträge zur anatomischen und systematischen Stellung der Oligochaeten. Zeitsch. f. wissensch. Zoologie. B. XVIII. 1868.

Ratzel und Warschawsky. Zur Entwicklungsgeschichte des Regenwurmes. Zeitschrift. f. wissenschaftliche Zoologie. 1868.

Reichert. Ueber den Furchungsprocess der Batrachier. Müller's Archiv. 1841.

Reichert. Der Furchungsprocess und die sogenannte Zellenbildung um Inhaltsportionen. Müller's Archiv 1846.

Rusconi. Développement de la Grenouille commune. Milan. 1826.

Selenka. Eifurchung und Larvenbildung von Phascolosoma elongatum. Zeitschrift f. wissensch. Zoologie 1875.

Stossich. Sopra lo sviluppo delle serpule. Bol. della Società Adriat. di Scienze natur. in Trieste. 1876.

Strasburger. Ueber Zellbildung und Zelltheilung. Jena. 1875.

Udekem D. Développement du Lombric terrestre. Memoires couronnés par l'Acad. de Belgique. T. XII.

Valentin. Ueber den Inhalt des Keimbläschens. Müller's Archiv. 1836.

Van Beneden. Recherches sur la composition et la signification de l'oeuf. 1870.

Van Beneden. Contributions à l'histoire de la vesicule germinative et du premier noyau embrionnaire. Bruxelles. 1876.

Van Beneden et Windischmann. Recherches sur l'embryogenie de Limaces. Müller's Archiv. 1841.

Warneck. Ueber die Bildung und Entwicklung des Embryos bei Gasteropoden. Bul. d. l. Societ. J. d. Natur. d. Moscou. 1850. B. 23. N. 1.

Spiegazione delle figure.

TAVOLA I.

Serpula glomerata.

Fig. 1. Uovo maturo con macchia germ. e nucleolino.

Fig. 2. Uovo maturo con due macchie germ.

Fig. 3. Sviluppo anomale delle veschichette direttrici.
Fig. 4. Prima cellula embrionale col nucleo embrionale.
Fig. 5. Nucleo di segmentazione con figure cariolitiche.
Fig. 6. Allungamento del nucleo di segmentazione.
Eig. 7. Divisione del nucleo di segmentazione.
Fig. 8. Le due prime sfere di segmentazione circondate dalla membrana vitellina. (Z. O. 2. S. F.).

TAVOLA II.

Echinus saxatilis.

Fig. 1. Uovo maturo circondato da uno strato albuminoso.
Eig. 2. Macchia germ. sparita.
Fig. 3. Prima sfera embrionale.
Fig. 4. I due primi nuclei di segmentazione.
Fig. 5. Le due prime sfere embrionali.

Tav. I.

Fig. 1.

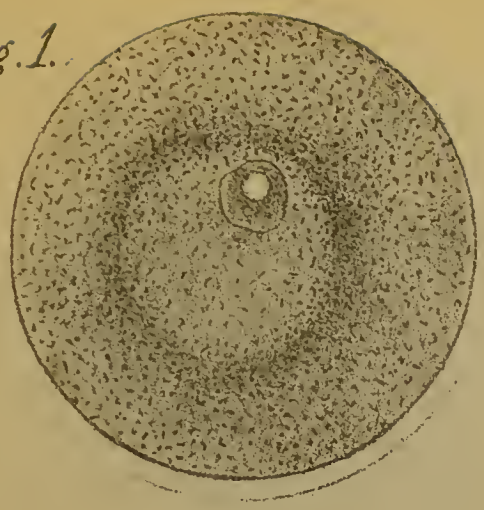


Fig. 2.

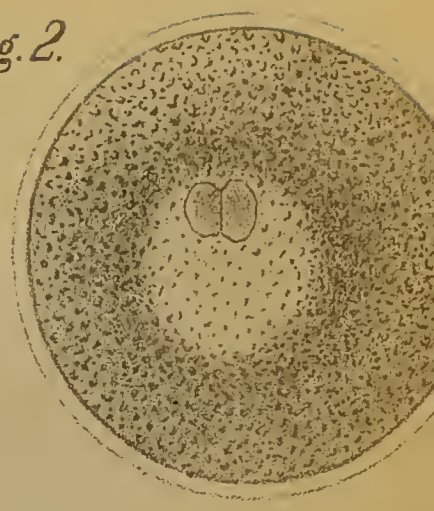


Fig. 3.

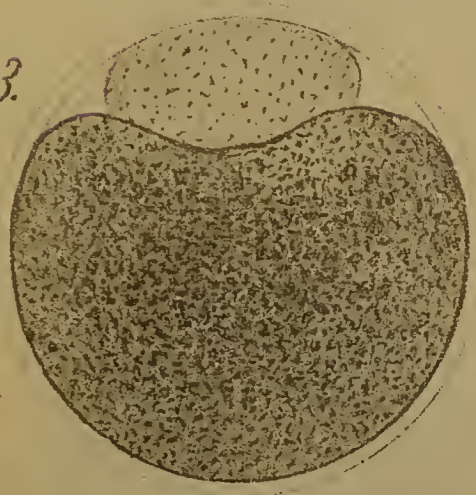


Fig. 4.

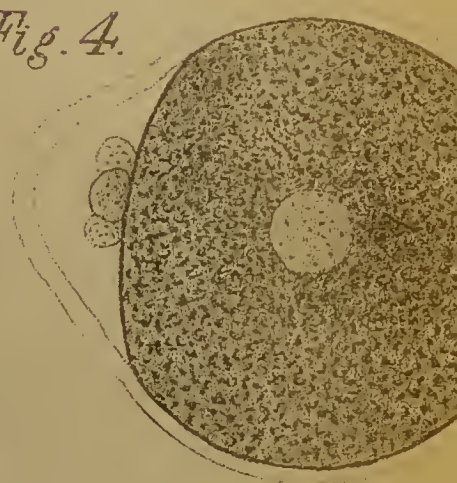


Fig. 5.

Fig. 6.

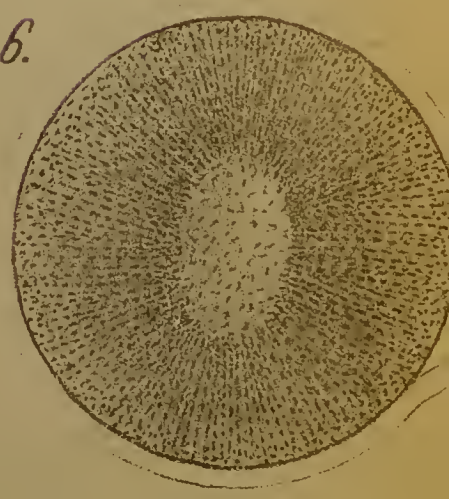


Fig. 7.

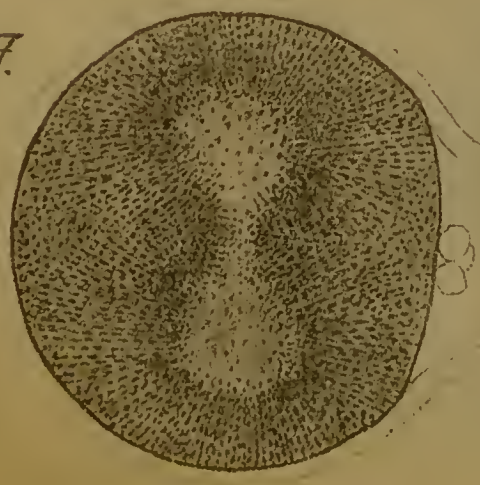
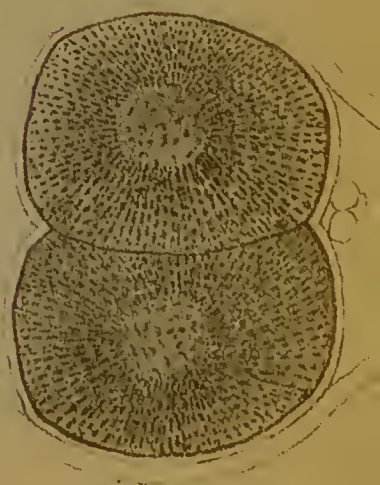


Fig. 8.



Tav. II.

Fig. 1.

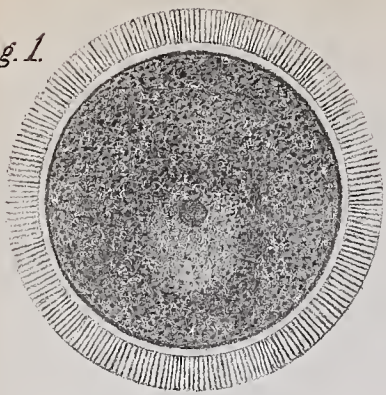


Fig. 2.

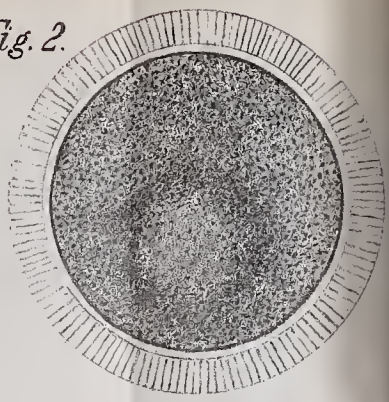


Fig. 3.

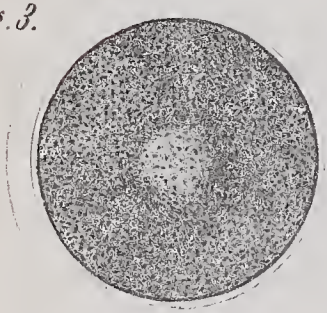


Fig. 4.

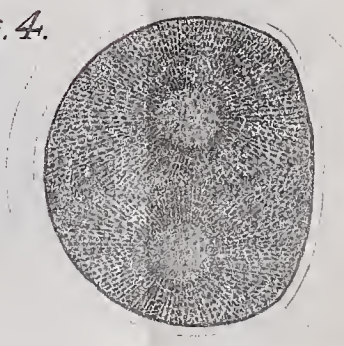
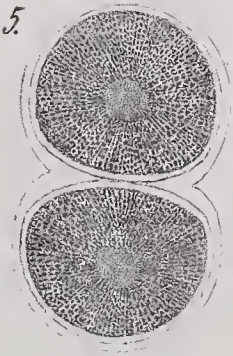


Fig. 5.



ROYAL COLLEGE OF SURGEONS
LIBRARY